毛冠鹿(*Elaphodus cephalophus*)体细胞的染色体研究

张锡然　王建华　陈玉泽

（中国科学院昆明动物研究所）

摘　要

本文首次报道我国特有的珍贵动物毛冠鹿的染色体数目及特征，其二倍染色体众数雄性为2n＝48，雌性为2n＝47。雌雄两性的核型中均有几条难以鉴别的染色体，如雌性的第23对染色体，24号染色体；雄性的第23号，24号、25号、26号染色体，G-带分析表明，雄性的第25号，26号染色体正相当于雌性的24号染色体的长臂和短臂。C-带，G-带观察表明，雌性的第23对，24号染色体，雄性的23号，24号，25号染色体异染色质特别丰富，推测这几条染色体可能参与性别的决定，但正确的性决定机制及性染色体的鉴别有待进一步研究。Ag—As技术揭示，核仁组织者均位于第一对和第二对染色体的次缢痕处。此外，本文还测定了该种动物姐妹染色单体的交换频率(SCE)，其平均值为每细胞6.2。

毛冠鹿（*Elaphodus cephalophus*）又名黑麂，青麂（谭邦傑、1955），是我国特有的珍贵动物，至今，有关它的染色体数目、形态特征及其在进化上的地位，资料尚缺。鉴于此，作者对来自云南产和浙江产的同一种的两头毛冠鹿(雌雄各一)，进行了染色体的核型，各种带型(G-带、C-带、Ag-带及SCE)的观察分析，现将结果报道如下。

材 料 和 方 法

分别对两头毛冠鹿进行了皮肤(♀，取自腹股沟处，组织块大小约0.5×1.0厘米)、肺（♂）组织成纤维细胞的原代培养和传代培养。培养液组成：1640培养基85%；小牛血清15%；双抗1％（每毫升含青链霉素各1万单位），pH7.0—7.2。于培养后48小时加秋水仙素（200微克/毫升），使最终浓度为0.6微克/毫升，6小时后，终止培养，用0.25%胰蛋白酶（difco）将细胞消化下来，离心(800转/分），0.5%KCl低渗20分，甲醇，冰醋酸（3:1）固定两次，每次20分，空气干燥法制片。

本文1981年11月17日收到。

1.G-带技术（Seabright，1971；陈宜峰等，1976）

将空气干燥法制得的片子，经0.0625%胰酶处理50秒—90秒，4°C，双蒸水漂洗，3%Giemsa（pH6.8磷酸缓冲液）染色8分钟。

2.C-带技术（Sumner，1972.）

染色体片子经0.2N HCl处理30分，水洗，5%$Ba(OH)_2$处理15—20分，50°C，水洗，经2×SSC溶液（0.3*M* NaCl和0.03*M*柠檬酸钠），61°C，孵育4小时，水洗，3%Giemsa（pH6.8）染色8分钟。

3.Ag—As技术（张锡然等，1982）

在染色体片子上，滴加50%$AgNO_3$数滴，复盖一小块擦镜纸，片子置于电热恒温板（60°C左右），上方有30W紫外灯垂直照射，距离为6厘米，照射时间约10—15分，视擦镜纸变棕黑色为适，自来水冲洗，再用氨银液和3%福尔马林等量复染，至染色体为棕黄色为止，冲洗。

4.SCE技术（贺维顺等，1980）

在传代培养时，当细胞接种后，按8微克/毫升剂量加5-溴去氧尿嘧啶核苷（BRdU），37°C避光培养，48小时后，加秋水仙素，使最终浓度为0.6微克/毫升，空气干燥法制片。同上。

姐妹染色单体分化染色：制备好的染色体片子，在37°C下放24小时，于染色体片子上加几滴I×SSC（等量的0.3*M* NaCl和0.03*M*柠檬酸钠相混合），盖一擦镜纸，玻片放在一个培养皿中的玻棒上，培养皿内加适量的I×SSC溶液，将培养皿置于50°C左右电热板上，以30W紫外灯垂直照射30分，距离为6厘米，自来水漂洗，3%Giemsa（pH6.8）染7—10分钟。

结 果 和 讨 论

一、染色体数目及形态：

从表1可见，毛冠鹿雌性染色体众数为2n=47（占81%），雄性2n=48（占86%）。在所有的全部染色体中，其中有三对大染色体：第一对为末端着丝点染色体；第二对为近端着丝点染色体；第三对为中着丝点染色体。另有19对末端着丝点的小染色体。在雌性，第23对为中等大小的末端着丝点染色体，第24号为一条最大的近端着丝点染色体；在雄性，第23号为一条中等大小的末端着丝点染色体，24号为一条中等大小的近端着丝点染色体，25号为一条大的末端着丝点染色体，26号为一条小的末端着丝点染色体（图a、b）。Giemsa染色可清楚地看到在第一对和第二对染色体的长臂均有次缢痕（图a、b）。

二、G-带：

第一对染色体：8条深带，8条浅带。

第二对染色体：短臂：一条深带，一条浅带，

长臂：6条深带，6条浅带。

第三对染色体：短臂：2条深带，3条浅带，

长臂：3条深带，3条浅带。

表 1　　毛冠鹿二倍体细胞染色体观察结果

动物数	性别	观察细胞数	二倍体细胞染色体数						
			<45	45	46	47	48	49	>49
1	♀	100	^{6}(6%)	^{2}(2%)	^{3}(3%)	^{81}(81%)	^{2}(2%)	0	^{5}(6%)
1	♂	100	^{4}(4%)	^{3}(3%)	^{4}(4%)	^{3}(3%)	^{86}(86%)	0	0

在19对小染色体中，它们也各自均有自己特殊的染色体带型，其中较大者，可见三条深带，中等的可见二条深带，最小的也可见一条深带，且分布及特点各异。雌性的第23对染色体：6条深带，6条浅带。

24号：短臂：一条深带，一条浅带。

长臂：8条深带，8条浅带。

雄性的23号：6条深带，6条浅带。

24号：短臂：一条深带，一条浅带，

长臂：6条深带，6条浅带。

25号：8条深带，8条浅带，

26号：一条深带，一条浅带。

三、C-带、

在三对大染色体和19对小染色体的着丝点区域，C-带均显示为结构异染色质区域。

雌性的24号染色体：短臂近差丝点端深染，末端浅染；

长臂近着丝点端约3/4深染，远着丝点端约1/4浅染。第23对染色体：末端浅染，其余全部深染。

雄性的23号：末端浅染，其余全部深染。

24号：短臂浅染，长臂全部深染。

25号：近着丝点端约3/4深染，远端约1/4浅染。

26号：近着丝点端深染，末端浅染（图e、f）。

四、Ag-带：

雌性：在所观察的15个细胞中，每个细胞的第一对和第二对染色体均显示银染的核仁组织者（Ag—NOR_S）占百分之百，且Ag—NOR_S均分布于两对染色体的次缢痕处。雄性观察了20个细胞，其结果同于雌性（表2、图g）。

表 2　　毛冠鹿Ag—NORs 的观察结果

性别	组织	观察细胞数	Ag—NOR_S出现率	Ag—NOR_S的位置	
				次缢痕	其他部位
♀	皮肤	15	15/15	15	0
♂	肺	20	20/20	20	0

五、姐妹染色单体互换（SCE）：

我们观察了50个中期细胞，计算其交换频率为6.2/每细胞（♂），且交换次数多集中于大染色体上（图h）。

在上述结果中，值得指出的是：

（1）毛冠鹿染色体的核型中，性染色体尚不能肯定地加以鉴别，如果雌性的第23对染色体为XX，雄性的第23号、24号染色体为XY的话，那么雌性的第24号染色体，雄性的第25号，26号染色体如何归属呢？众所周知，哺育动物的性决定方式及机制是极为复杂的（Hsu et al.，等1973），加之我们所做的动物数量有限，只能推测这几条染色体可能参与性别的决定，但正确的性决定机制及性染色体的鉴别有待进一步研究。

（2）G-带分析可见，雌性的第24号染色体的长臂的带纹同雄性的第25号染色体的带纹相符，26号染色体是一条较小的末端着丝点染色体。此种情况显然是由于24号染色体发生着丝点断裂形成25号、26号染色体，或是由25号，26号染色体发生着丝点融合形成24号染色体的结果。

（3）C-带表明，雌性的第23对、24号染色体，雄性的23号、24号、25号染色体，异染色质特别丰富，占了长臂的绝大部分，而G-带分析，这些异染色质区域均不同程度的显示一些带纹，尽管这些带纹不象其他区域的带纹清晰。与此类似的情况也见于叙利亚地鼠的染色体中Popescu等，1979）。

（4）Ag—NOR_S不论在不同性别（雌、雄），还是不同组织（皮肤、肺）、表现的结果是一致的，均位于第一对，第二对染色体的次缢痕处。这和Goodpasture等（1975）报道的赤麂、袋鼠等相类似。毛冠鹿染色体的次缢痕处便是NOR的活动区。

参考文献

谭邦杰 1955 哺乳类动物图鉴。 科学出版社。

陈宜峰等 1976 猕猴（*Macaca mulatta*）染色体的Giemsa带型分析。遗传学报，3(4)309—312。

张锡然等 1982 正常狗（*Canis familiaris*）的体细胞染色体核仁组织者银染观察。动物学研究，3(1)53—57。

贺维顺等 1980 一种简易的姐妹染色单体分化方法——紫外线照射加Giemsa染色(UPG)。自然杂志，8:638。

Goodpastere, C. et al. 1975 Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma* (Berl), 53:37—50.

Hsu, T. C. et al. 1973 AN ATLAS OF MAMMALIAN CHROMOSOMES. Volume7. Folio321; Folio322.

Popescu, N. C. et al. 1979 Heterogeneity of constitutive heterochromatin in somatic Syrian hamster chromosomes. *Cytogenet Cell Genet.*, 24:53—60.

Seabright, M. 1971 A rapid banding technique for human chromosome. *Lancet.*, 11:971—972.

Sumner, A. T. 1972 A simple technique for demostrating centromric heterochromatin. *Exp. Cell Res.*, 75:304—306.

SOMATIC CHROMOSOME STUDIES OF THE TUFTED DEER (*ELAPHODUS CEPHALOPHUS*)

Zhang Xiran　Wang Jianhua　Chen Yuze

(*Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica.*)

The karyotype of the Tufted Deer (*Elaphodus cephalophus*) is first investigated with cultured fibrolasts from the lung and skin of two animals (one male and one female). The diploid number is 48, in the male and 47, in the female. G-band analysis shows that chromosomes 25 and 26 of the male just correspond to the long and short arms of chromosome 24 of the female, respectively. C-band observations shows that a pair of chromosome 23 and a chromosome 24 in the female and a chromosome 23, a chromosome 24 and a chromosome 25 in the male all contain rich heterochromatin. We think that these specific chromosomes probably relate to the sexual determination. The Ag-AS technique reveals clearly silver stained spots at the secondary constrictions of two pairs of autosomes 1 and 2. In addition, the spontaneous frequencies of the sister chromatid exchanges (SCE) of this species are calculated. The average SCE number per cell is 6.2.

辽东半岛的蚤类

THE FLEAS OF LIAODONG PENINSULA

辽东半岛的蚤类，森川义金（1941）和大野（1942）曾作过一些报道。为弄清这一地区蚤类的区系分布，我们先后在旅顺、大连、庄河、宽甸、风城、岫岩、千山及复县等地进行了较广泛的调查。从人体及12种兽类（共11.850只）身上检获蚤类标本2.300多号，经鉴定共有16种，分隶7科13属，其中包括我国新纪录一种，现将各种的分布及其寄主叙述如下：

（一）蚤科Pulicidae

1.人蚤*Pulex irritans* Linnaeus, 1758

分布　大连、旅顺、庄河、宽甸、风城、岫岩（常见种）。

寄主　家犬、人。

2.猫栉首蚤猫亚种*Ctenoephalides felis felis* (Bouche, 1835)

分布　大连（常见种）。

本文1981年10月6日收到。

寄主　人、家犬、家猫、家兔及黄鼬(*Mustela sibirica*)。

3.犬栉首蚤*C. canis* (Curtis, 1826)

分布　大连（常见种）。

寄主　家犬、黄鼬。

4.印鼠客蚤*Xenopsylla cheopis* (Rothschild, 1903)

分布　大连和旅顺（常见种）、庄河、宽甸、凤城。

寄主　人、褐家鼠(*Rattus norvegicus*)、小家鼠(*Mus musculus*)。

（二）蠕形蚤科Vermipsyllidae

5.圆钩鬃蚤*Chaetopsylla mikado* Rothschild, 1904、中国新纪录。1955年3月首次在大连南郊黄鼬身上采到，共获16♂♂、15♀♀。

分布　大连

寄主　黄鼬

（三）多毛蚤科Hystrichopsyllidae

6.同属栉眼蚤拟同属亚种*Ctenophthalmus congener congeneroides* Waner, 1930

分布　庄河、岫岩、复县（常见种）。

寄主　林姬鼠(*Apodemus sylvaticus*)、黑线姬鼠(*A. agrarius*)、黑线仓鼠(*Cricetulus barabensis*)。

7.二齿新蚤*Neopsylla bidentatiformis*(Wagner, 1893)。

分布　旅顺、庄河、千山、岫岩。

寄主　黑线仓鼠、大仓鼠(*Cricetus triton*)、褐家鼠。

8.不常纤蚤*Rhadinopsylla insolita* Jordan, 1929。

分布　旅顺(1959、Ⅳ、1♀)

寄主　黑线仓鼠。

9.弱纤蚤*R. tenella* Jordan, 1929。

分布　旅顺。

寄主　黑线仓鼠

（四）蝠蚤科Ischnopsyllidae

10.长鬃蝠蚤*Ischnopsylla comans* Jordan & Rothschild, 1921

分布　大连(1♂，6♀♀)。

寄主　普通伏翼(*Pipistrellus abramus*)。

（五）细蚤科Leptopsyllidae

11.缓慢细蚤*Leptopsylla segnis*(Schönherr, 1811)

分布　大连、旅顺。

寄主　小家鼠、褐家鼠。

12.丛鬃双蚤*Amphipsylla vinogradovi* Ioff, 1927

分布　岫岩(4♂♂，30♀♀)。

寄主　黑线仓鼠。

13.棕形额蚤鼠兔亚种*Frontopsylla spadix spadix cansa* Jardan, 1932

分布　千山(1961.Ⅱ.1♀)。

寄主　小家鼠。

（六）角叶蚤科Ceratophyllidae

41具带病蚤*Nosopsyllus fasciatus*(Bosc., 1801)

分布　大连。

寄主　褐家鼠。

15.花鼠单蚤*Monopsyllus indages*(Rothschild, 1908)

分布　岫岩(1961.Ⅴ.1♀)

寄主　花鼠(*Eutamias sibiricus*)

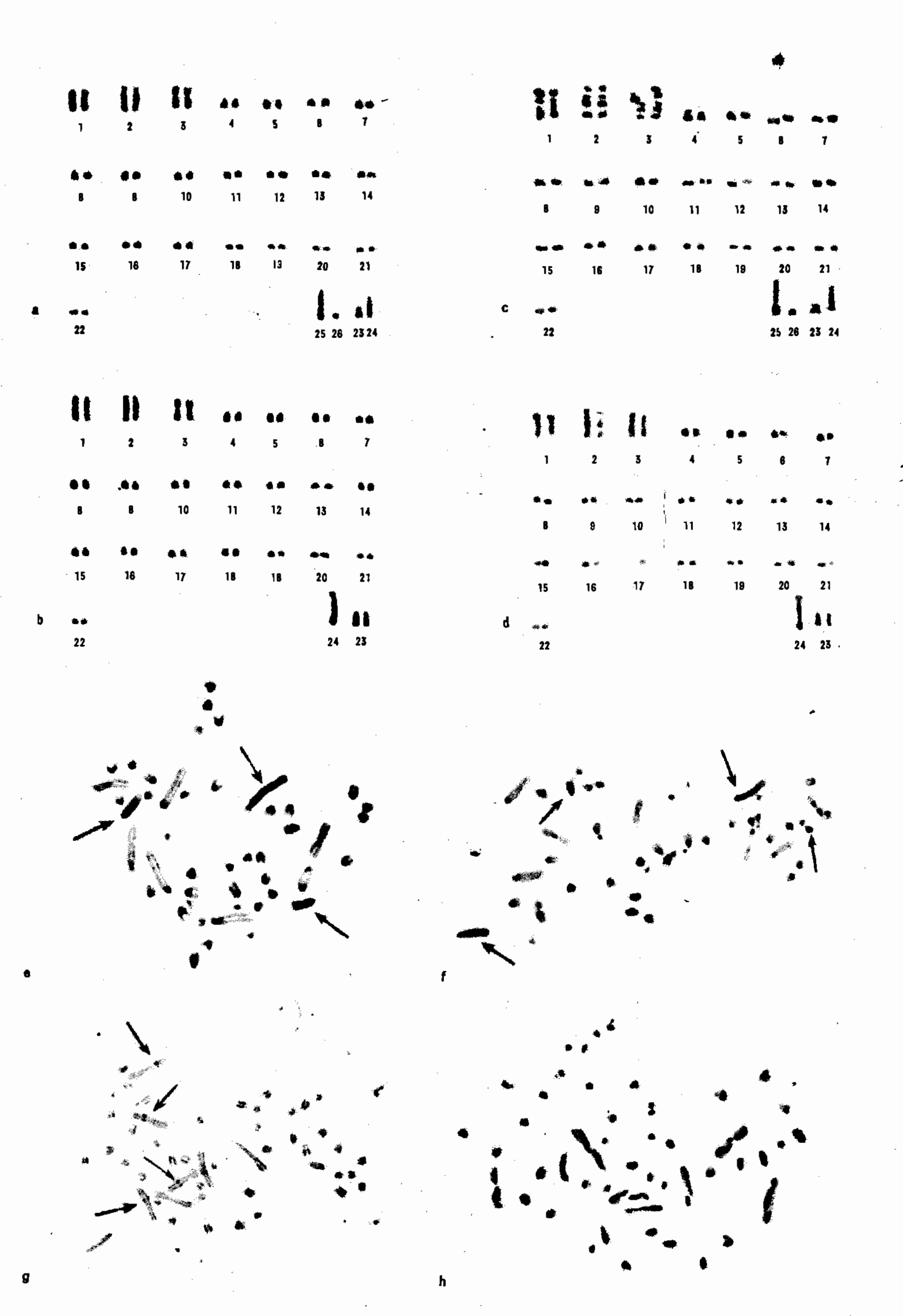
16.不等单蚤*M. anisus* (Rothild, 1907)

分布　大连和旅顺（优势种）、蛇岛、千山、庄河。

寄主　褐家鼠、小家鼠、人。

叶淑铭　聂文清　李杰

(大连医学院寄生虫学教研室)



a: 毛冠鹿（*Elaphodus cephalophus*）正常核型（♂）

b. 正常核型（♀）；　*c*. *G*－带（♂）；　*d*. *G*－带（♀）；

e. *C*－带（♀）；　*f*. *C*－带（♂）；　*g*. *Ag*－带（示*Ag*－*NORs*位于次缢痕处。♂）

h. *SCE*。（♂）。